

脱毒马铃薯试管薯简化生产技术研究

武佩祥¹, 邱彩玲², 魏琪², 董学志², 张抒², 王文重², 闵凡祥²

(1. 黑龙江省马铃薯原种繁殖场, 黑龙江 嫩江 161449; 2. 黑龙江省农业科学院 植物脱毒苗木研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要:为了简化马铃薯试管薯的生产程序, 节约时间和生产成本, 利用大西洋和荷兰 15 试管苗作为试验材料, 研究了直接诱导和间接诱导生产试管薯的技术, 并比较了不同诱导培养基生产试管薯效果的差异。结果表明: 间接诱导法生产试管薯的平均试管薯重、每瓶结薯数等均优于直接诱导法, 适宜用于实际生产; A[(MS(大微量元素)+肌醇 100 mg·L⁻¹+VB 10.42 mg·L⁻¹+BA 5 mg·L⁻¹+CCC 500 mg·L⁻¹+白糖 8%)]、B[(MS(大微量元素)+肌醇 100 mg·L⁻¹+BA 3 mg·L⁻¹+白糖 8%)]诱导培养基效果优于其它 3 种培养基, 为筛选出的高效培养基。

关键词:马铃薯试管薯; 诱导方法; 培养基; 简化

中图分类号: S532.048

文献标识码: A

文章编号: 1002-2767(2012)06-0037-03

脱毒马铃薯种薯在马铃薯生产中的作用日渐显著, 已被广大马铃薯种植者认可。20 世纪 80 年代初, 诱导马铃薯试管薯获得成功^[1], 目前, 试管薯已被广泛应用于种质资源保存和交换, 脱毒种薯的生产、运输以及在马铃薯基因工程研究中用作遗传转化的受体等。利用试管薯生产脱毒马铃薯种薯的优点: (1) 无需扦插, 减少了病毒再感染机会, 使用方便; (2) 比试管苗生长健壮、旺盛, 产量高; (3) 具有适于工厂化生产, 可以直接移栽到大田, 节约成本等优点^[2]; (4) 不受季节限制, 可周年生产; (5) 占地面积小, 易于贮存、交流和运输。Kim^[1]首先报道了用组培法诱导微型薯的方法, 但是他所用的培养基成本高, 方法过于复杂, 不能适应大量生产微型薯及大量保存种质的需要。很多科研工作者在试管薯的诱导中也做了大量的研究^[3-6]。目前, 普遍采用先培养壮苗, 再诱导结薯的方法来生产试管薯。这样生产周期较长, 耗费的人力和物力较多, 而且操作麻烦, 容易造成污染。为了简化马铃薯试管薯的生产工艺流程, 缩短生产周期, 降低污染率和生产成本, 进行了诱导方法研究和简化培养基等试验, 以期找到更为简便和直接的方法生产试管薯。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为大西洋试管苗(代号 Y, 中晚熟品种); 荷兰 15 试管苗(代号 F, 早熟品种)。由黑龙

江省马铃薯工程技术研究中心提供。

1.2 方法

1.2.1 诱导方式 直接诱导(一步法): 直接将试管苗节段分别剪入带纸桥的 5 种液体诱导培养基(配方见 1.2.2), 荷兰 15 和大西洋每种诱导培养基都繁殖 20 瓶(体积为 200 mL), 培养基用量为 40 mL·瓶⁻¹, 每瓶 5 个大节段, 每个大节段 3 个腋芽, 直接生产试管薯。

间接诱导(两步法): 先用纸桥法 MS 液体培养基培育壮苗, 培养基用量为 20 mL·瓶⁻¹, 剪切试管苗的方法和数量同直接诱导法, 光周期为 16 h·d⁻¹, 温度 23~25℃, 培养 30 d 后, 注入 20 mL·瓶⁻¹液体诱导培养基诱导试管薯。

直接诱导法和间接诱导法诱导试管薯的培养条件均为 18~20℃, 完全黑暗培养, 培养基总用量相同(40 mL·瓶⁻¹), 总生产时间也相同。待各种处理的试管薯均不再继续生长时收获测产。

1.2.2 诱导培养基 A(引自国际马铃薯中心培养基配方): MS(大微量元素)+肌醇 100 mg·L⁻¹+VB10.42 mg·L⁻¹+BA5 mg·L⁻¹+CCC 500 mg·L⁻¹+白糖 8%; B(引自台湾培养基配方): MS(大微量元素)+肌醇 100 mg·L⁻¹+BA 3 mg·L⁻¹+白糖 8%; C: MS(大微量元素)+CCC 500 mg·L⁻¹+白糖 8%; D: MS(大微量元素)+肌醇 100 mg·L⁻¹+白糖 8%; E: MS(大微量元素)+白糖。以上培养基 pH 均为 5.8。

1.2.3 调查项目 收获测产时调查平均每瓶结薯数、平均单薯粒重、平均每瓶结薯重。

2 结果与分析

2.1 直接诱导试管薯产量

从表 1 可以看出, 每种诱导培养基都可以直

收稿日期: 2012-03-30

第一作者简介: 武佩祥(1966-), 男, 黑龙江省巴彦县人, 农艺师, 从事脱毒马铃薯种薯生产及相关技术研究。E-mail: WPX_666666@163.com。

表 1 直接诱导试管薯产量
Table 1 Potato microtuber yield of direct induction

处理 Treatment	平均每瓶 结薯数/个 Average tuber number per bottle	平均每瓶 结薯重/mg Average total tuber weight per bottle	平均 单薯粒重/mg Average weight per tuber	处理 Treatment	平均每瓶 结薯数/个 Average tuber number per bottle	平均每瓶 结薯重/mg Average total tuber weight per bottle	平均 单薯粒重/mg Average weight per tuber
A-F	2.33	27.17	11.64	A-Y	4.85	110.77	22.86
B-F	4.38	117.77	26.89	B-Y	5.00	113.00	22.60
C-F	1.75	20.00	11.43	C-Y	2.80	115.67	41.31
D-F	1.40	9.40	6.71	D-Y	3.75	70.75	18.87
E-F	1.38	18.25	13.27	E-Y	3.50	189.00	54.00

注：A-F：直接诱导，指采用诱导培养基 A 直接生产的荷兰 15 试管薯；A-Y：采用诱导培养基 A 直接生产的大西洋试管薯，依此类推。
Note：A-F：direct induction，which means Helan 15 tuber *in vitro* that was induced by the medium A directly. A-Y means Atlantic tuber *in vitro* that was induced by the medium A directly，and so on.

接诱导结薯，但无论是大西洋还是荷兰 15，其试管薯个数都非常少，且平均单薯粒重也非常低，很难保存，极易失水变干枯，无法应用于实际生产中。

2.2 间接诱导试管薯产量分析

从表 2 可以看出：无论荷兰 15(F)还是大西洋(Y)，均表现为处理 A 每瓶薯重和单薯粒重最高。但经方差分析，这几种培养基(处理)差异均不显著。

表 2 间接诱导试管薯产量
Table 2 Potato microtuber yield of indirect induction

处理 Treatment	平均每瓶 结薯数/个 Average tuber number per bottle	平均每瓶 结薯重/mg Average total tuber weight per bottle	平均 单薯粒重/mg Average weight per tuber	处理 Treatment	平均每瓶 结薯数/个 Average tuber number per bottle	平均每瓶 结薯重/mg Average total tuber weight per bottle	平均 单薯粒重/mg Average weight per tuber
MS-B-F	9.08a	435.33	47.94	MS-A-Y	6.43a	663.43	103.57
MS-A-F	6.73ab	518.64	77.06	MS-C-Y	4.82a	455.12	94.42
MS-E-F	5.69ab	392.08	68.88	MS-E-Y	4.64a	429.93	92.65
MS-D-F	4.54b	228.00	50.22	MS-D-Y	4.60a	399.10	86.76
MS-C-F	4.50b	215.58	47.91	MS-B-Y	3.93a	394.07	100.27

注：MS-A-F：间接诱导，指采用 MS 液体培养基壮苗后，采用 A 诱导培养基诱导的荷兰 15 试管薯；MS-A-Y 指采用 MS 液体培养基壮苗后，采用 A 诱导培养基诱导的大西洋试管薯，依此类推。
Note：MS-A-F：indirect induction，which means Helan 15 tuber *in vitro* that was induced by the medium A using strong plantlet produced by MS liquid medium. MS-A-Y means Atlantic tuber *in vitro* that was induced by the medium A using strong plantlet produced by MS liquid medium，and so on.

此外，对荷兰 15 和大西洋每瓶结薯粒数进行了方差分析，结果表明，在间接诱导中，对于荷兰 15，B 诱导培养基每瓶结薯个数最多，与 D 和 C 处理差异显著，但没达到极显著水平；但是，对于大西洋来讲，各个诱导培养基的诱导效果相似，没有达到差异显著水平。每瓶结薯重和单薯粒重经方差分析均不显著。

表 2 结果总体表现为：在间接诱导方法中，A、B 诱导培养基效果较好，每瓶结薯数、结薯重均较多。但是，荷兰 15 和大西洋表现的不完全一致，可能是由于品种间存在一定差异。

2.3 直接诱导法和间接诱导法比较

从直接诱导法和间接诱导法生产马铃薯试管

薯的结果(见表 1 和表 2)可看出：(1)两种方法均能诱导产生试管薯；(2)直接诱导法具有操作简单的优点，但存在产量低，结薯过小的缺点；(3)间接诱导法生产试管薯的平均试管薯重、每瓶结薯数等均优于直接诱导法，但存在操作相对繁琐，容易引起二次污染的缺点。鉴于实际生产中直接诱导法生产的试管薯基本无法应用的事实，建议采用间接诱导法生产马铃薯试管薯。

3 讨论

试管苗的发育状况直接影响着试管薯的形成和产量。只有在试管薯形成前培育出健壮的试管苗才能够保障充足的生物量和干物质，才有可能

获得优质试管薯^[7]。该研究表明,将马铃薯试管苗节段直接接种到诱导培养基中,虽然可以在简化程序的同时可以成功诱导结薯,但是由于没有形成试管苗或者试管苗长势太弱,植株小,营养物质储存较少,导致试管薯太小,且结薯数量少,不适用于日常生产。这与吕长文^[8]、李灿辉^[9]等的研究结果一致,进一步证实了直接诱导法的弊端。

间接诱导的效果要好于直接诱导,此结论与吕长文的结论一致^[7],即无论在结薯数量还是产量上均有很大提高。但该研究采用纸桥法生产试管苗阻碍了根系的生长,使试管苗不够健壮,导致试管薯小且少,有待于进一步开展壮苗试验。

关于激素在试管薯诱导中的作用,前人已经做了很多工作,并取得了很大进展。尽管在没有任何外源激素的参与下,只要环境适宜,也能形成马铃薯试管薯^[10],但在相同条件下其结薯晚、结薯率低、薯块小。胡云海和蒋先明^[11]报道细胞分裂素对微型薯的形成起着不可忽视的协调作用;张昌伟等^[12]报道加入一定浓度的外源激素,利于促进试管薯的形成和产量的提高。该研究通过几种诱导培养基诱导效果的比较,可以看出:间接诱导试验中诱薯培养基 A 和 B 表现较好,每瓶结薯数和产量均较高,而这两种培养基中均含有 6-BA,因此,说明添加 6-BA 对于诱导试管薯有很好的效果,进一步验证了 Abbot 和 Belcher^[8]的结论,与李波等人^[13]的研究结果也基本一致。

参考文献:

[1] Kim Y C. *in vitro* tuber formation from proliferated shoots

of potato (*Solanum tuberosum*) as a method of aseptical maintenance [D]. South Korea: University of South Korea, 1982.

- [2] 付翔. 马铃薯试管薯大田育苗栽培生产种薯的研究[D]. 武汉:华中农业大学,2007.
- [3] 胡云海,蒋先明. 植物激素对微型薯形成的影响[J]. 马铃薯杂志,1992,6(1):14-22.
- [4] 李玉巧,朱鹿鸣. PP₃₃₃、GA₃ 和 BA 对马铃薯试管苗生长调节作用的研究[J]. 作物学报,1994,20(1):59-65.
- [5] 连勇,邹颖,杨宏福,等. 马铃薯试管薯发育机理的研究——外源诱导剂对试管薯形成的影响[J]. 马铃薯杂志,1996,10(3):130-132.
- [6] 连勇,刘蕾,屈冬玉,等. GA₃、IAA 和 C/N 对马铃薯试管薯匍匐茎及试管薯形成的影响[J]. 马铃薯杂志,1999,13(1):3-6.
- [7] 吕长文. 马铃薯试管结薯的培养基筛选与光周期诱导效应研究[D]. 重庆:西南农业大学,2004.
- [8] 吕长文,王季春,唐道彪,等. 诱导法与营养液配方对马铃薯试管薯结薯的影响[J]. 西南农业大学学报,2004,26(1):28-34.
- [9] 李灿辉,王军,管朝旭,等. 离体培养条件下植物生长物质对马铃薯块茎形成的影响[J]. 马铃薯杂志,1998,12(2):67-74.
- [10] Abbot A J, Belcher A R. Potato tuber formation *in vitro* [M]//Withers L A, Alderson P G. Plant Tissue Culture and Its Agricultural Applications. London: Butterworths, 1986.
- [11] 胡云海,蒋先明. 植物激素对微型薯形成的影响[J]. 马铃薯杂志,1992,6(1):14-22.
- [12] 张昌伟,侯喜林,袁建玉,等. 不同外源激素对马铃薯试管薯形成的影响[J]. 江西农业大学学报,2005,27(1):72-76.
- [13] 李波,白庆武,李志民,等. 影响马铃薯试管薯形成的几种因素[J]. 齐齐哈尔师范大学学报:自然科学版,1996,16(4):59-60.

Research on Simplify Production Technology for Virus-free Seed Potato Microtubers

WU Pei-xiang¹, QIU Cai-ling², WEI Qi², DONG Xue-zhi², ZHANG Shu², WANG Wen-zhong²,
MIN Fan-xiang²

(1. Heilongjiang Seed Potato Production Base, Nenjiang, Heilongjiang 161449; 2. Virus-free Seedling Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086)

Abstract: In order to simplify the potato microtuber production technology, save time and cost, Atlantic and He-lan 15 microplants were used as materials, induction method was studied and different induction culture medium were compared at the same time. The result showed that: indirect induction was better than direct induction and culture medium A and B were selected as better induction culture medium than the three others. The culture medium A and B was MS+inositol 100 mg·L⁻¹+VB 10.42 mg·L⁻¹+BA 5 mg·L⁻¹+CCC500 mg·L⁻¹+Sugar 8%, MS+inositol 100 mg·L⁻¹+BA 3 mg·L⁻¹+Sugar 8%.

Key words: potato microtuber; induction method; culture medium; simplify

(该文作者还有高云飞,单位同第二作者)